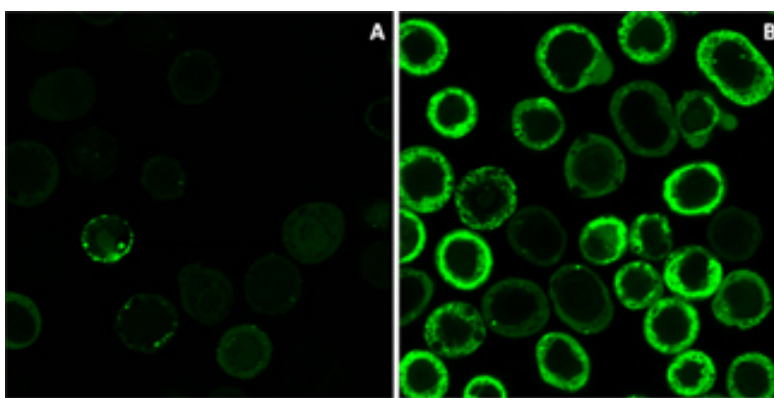


02/2010

Chaperonas bacterianas para mejorar la producción de proteínas en células de insecto



La posibilidad de obtener proteínas con aplicaciones industriales o terapéuticas mediante la tecnología del DNA recombinante ha revolucionado la industria biotecnológica. A pesar de esto, la producción de proteínas recombinantes en sistemas heterólogos aún no está optimizada y, muchas veces, estas proteínas se obtienen en forma insoluble. La selección de un sistema de expresión adecuado es importante para conseguir obtener la proteína en una forma funcional y soluble. En esta tesis se ha utilizado una GFP recombinante como proteína modelo para estudiar agregación y actividad durante la producción de proteínas recombinantes en *Escherichia coli* y en el sistema de expresión de baculovirus.

Al producir nuestra proteína modelo en *E. coli*, ésta se obtiene mayoritariamente en forma de cuerpos de inclusión con una elevada actividad biológica. Nuestros resultados indican que aunque es posible mejorar la solubilidad de la proteína optimizando parámetros del proceso de producción, las condiciones que permiten mejorar los niveles de producción resultan en una disminución de la calidad conformacional de la proteína obtenida. Ya que no es posible maximizar al mismo tiempo el rendimiento del proceso de producción y la calidad de la proteína

obtenida, el diseño del proceso deberá optimizarse en función del parámetro más relevante para el uso final de la proteína.

Además, la versión soluble de esta proteína contiene una amplia gama de agregados solubles, que conforman una población heterogénea en cuanto a estructura secundaria y funcionalidad. Esto indica que los cuerpos de inclusión, que son más homogéneos que su versión soluble, pueden entenderse como una pequeña subpoblación dentro del total de especies proteicas recombinantes. Por otra parte, la calidad de la proteína recombinante representa un promedio estadístico de la calidad de cada una de estas especies.

Una de las estrategias más utilizadas para mejorar la solubilidad de proteínas recombinantes consiste en la coexpresión de moduladores del plegamiento. Al coexpresar la chaperona bacteriana DnaK y su cochaperona DnaJ con nuestra GFP modelo producida en *E. coli*, observamos una disminución de la agregación, que estaba asociada a proteólisis. El cambio de huésped de estas chaperonas juntamente con nuestra proteína modelo para producirlas en el sistema de expresión de baculovirus en células de insecto o larvas permitió mantener la actividad foldasa de DnaKJ eliminando su actividad proteolítica asociada, ya que ésta es dependiente de proteasas bacterianas. En el sistema de expresión de baculovirus observamos mejoras en los niveles de proteína total y soluble, la estabilidad proteolítica, solubilidad y actividad biológica al ser coexpresada con las chaperonas bacterianas DnaKJ. Además, hemos podido confirmar en un sistema eucariota el concepto de que el rendimiento y la calidad de la proteína obtenida son parámetros antagónicos que no se pueden favorecer de forma simultánea en procesos de producción.

Por último, también hemos podido comprobar que las chaperonas bacterianas son funcionales en un sistema eucariota. Esto permite ampliar el catálogo de moduladores del plegamiento disponibles para su uso en sistemas eucariotas.

Mónica Martínez Alonso

Institut de Biotecnologia i de Biomedicina (IBB)

CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN)

monica.martinez.alonso@uab.cat

Referencias

"Engineering and Production of Quality Viral Proteins in Prokaryotic and Eukaryotic Systems".

Tesis doctoral defendida por Mònica Martínez Alonso el 16 de febrero a las 12:00h, en la Sala de Graus de la Facultat de Biociències.

[View low-bandwidth version](#)